

百合鳞片离体培养的研究

李 敏, 王 俊

(大连花卉苗木绿化工程总公司, 辽宁 大连 116033)

摘 要:以‘布鲁拉诺’、‘提伯’和‘索蚌’3个百合品种的鳞片为外植体,比较了不同的消毒方法、不同品种、不同取材部位及接种方法对百合鳞片离体培养的影响。结果表明,最佳的消毒方法是0.1%升汞消毒8 min,污染率较低,成活率最高,可达90.9%,且采用小鳞茎整体消毒可以有效降低污染率。不同百合品种分化小鳞茎的能力有较大差异,分化能力依次为‘布鲁拉诺’>‘索蚌’>‘提伯’。百合鳞片不同部位分化小鳞茎的能力从大到小依次为下部、中部、上部。近轴面向上接种的鳞片分化能力强于远轴面向上,小鳞茎再生率最高,可达100%。

关键词:百合;鳞片;离体培养

中图分类号:S 682.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)02-0212-03

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)多年生球根花卉,其花色鲜艳、花姿雅致,具有较高的观赏价值和经济价值。近年来,东方百合和亚洲百合品种作为鲜切花广泛应用于各种庆典、节日和日常生活中,倍受消费者青睐,已成为我国鲜切花市场的主要品种,在我国花卉市场中占有重要地位^[1-2]。但我国商品化种球90%以上是从荷兰进口,限制了我国切花百合的产业化发展。所以,培育具有自主知识产权的百合新优品种、建立高效快繁体系和种球国产化是百合生产中亟待解决的问题^[3-8]。选取东方百合杂种系和亚洲百合杂种系品种为试材,研究其离体培养中的影响因素,为进一步生产扩繁、脱毒复壮和遗传转化研究等打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试材为东方百合杂种系2个品种‘索蚌’(Sorbonne)和‘提伯’(Tiber),亚洲百合杂种系品种‘布鲁拉诺’(Brunello)的鳞片。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 选取球径为2~3 cm的小鳞茎进行整体消毒,球径约4.5~5.5 cm的母球鳞茎分瓣消毒,首先在流水下冲洗30 min,然后采用3种方法消毒。I:0.1%升汞溶液浸泡8 min;II:70%的酒精30 s+0.1%升汞8 min;III:70%的酒精30 s。最后用无菌水冲洗5遍。

1.2.2 培养基和培养条件 鳞片切块大小为1 cm²,初

代培养基为MS+BA 0.5 mg/L,继代培养基为MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.05 mg/L。pH值5.8,培养温度为24~26℃,光照条件为1000~1500 lx,光照时数是12~14 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对百合鳞片消毒效果的影响

试验结果表明,3种消毒方法中,0.1%升汞消毒8 min的污染率较低,且成活率最高,可达90.9%。酒精消毒30 s污染率最高,达72.0%,鳞片成活率仅为28.6%(表1)。所以,单独使用0.1%升汞消毒8 min效果最佳。试验中还发现,百合鳞片的污染多由真菌引起,菌丝多为绿色或灰白色。

将3个百合品种直径为1.0~1.5 cm的小鳞茎和母球直径为4.5~5.5 cm的2~3层鳞片分别在0.1%升汞中整体和单片消毒8 min,比较2种方式消毒后鳞片的污染率(表2)。结果表明,3种百合品种都是小鳞茎整体消毒的效果好于单片消毒,这可能是由于小鳞茎体积小,鳞片层紧密,间隙小,受病菌侵染少的缘故。因此,采用小鳞茎整体消毒可以有效降低污染,但由于鳞茎直径小,比较难于切割,操作费时费力。所以,在实际应用中适合于较少量的试材处理。

表1 不同消毒方法对百合鳞片消毒效果的影响

消毒方法	接种鳞片数/块	污染鳞片数/块	污染率/%	成活鳞片数/块	成活率/%
0.1%升汞 8 min	25	3	12.0	20	90.9
70%酒精 30 s+0.1%升汞 8 min	25	2	8.0	17	73.9
70%酒精 30 s	25	18	72.0	2	28.6

2.2 不同品种对鳞片再生小鳞茎的影响

3个百合品种鳞片接入培养基MS+BA 0.5

第一作者简介:李敏(1966-),女,本科,高级工程师,主要从事花卉栽培与园林绿化工作。E-mail: limin8225@126.com。

收稿日期:2007-08-19

mg/ L 后3 ~5 周,在切块边缘诱导出淡黄色环状突起的愈伤组织,每个切块上有 4~8 个愈伤组织,多者可达 10 个。再经过 4 周后,这些愈伤组织继续生长形成浅绿色小鳞芽,将小鳞芽转移到继代培养基 MS+BA 0.5 mg/ L +IAA 0.05 mg/ L 上,2 周后便可形成小苗。结果表明,‘布鲁拉诺’的分化率最高,达 84.0%,其次为‘索蚌’,为 78.0%,‘提伯’相对最低,为 50.0%;每块鳞片分化鳞茎数也是‘布鲁拉诺’最高,为 5.5 个,‘索蚌’、‘提伯’相对较低,分别为 4.8 和 4.2 个(表 3)。所以,不同百合品种的分化小鳞茎的能力有一定差异。

表 2 百合鳞茎整体和分瓣消毒对消毒效果的影响

品种	消毒方式	接种鳞	污染鳞	污染率
		片数/ 块	片数/ 块	/ %
布鲁拉诺	整体	20	0	0.0
	分瓣	35	4	11.4
提伯	整体	20	1	5.0
	分瓣	20	3	15.0
索蚌	整体	25	0	0.0
	分瓣	35	3	8.6

表 3 不同百合品种对鳞片再生小鳞茎的影响

品种	接种鳞	分化小鳞茎的	分化率	平均每块鳞片
	片数/ 块	鳞片数/ 块	/ %	分化小鳞茎数/ 个
布鲁拉诺	60	51	85.0	5.5
提伯	40	20	50.0	4.2
索蚌	50	39	78.0	4.8

2.3 鳞片不同部位对再生小鳞茎的影响

把‘布鲁拉诺’的鳞片切成上、中、下 3 段,接种在 MS+BA 0.5 mg/ L 的培养基上,2 周后,下段鳞片出现乳黄色或黄色突起,7 周后统计各个部位鳞片分化小鳞茎的数量(表 4)。从表 4 可以看出,不同部位百合鳞茎形成小鳞茎的能力有较大差异,上部最差,分化小鳞茎的鳞片数仅为 5.0%,中部为 44.1%,下部最强为 90.0%。平均每块鳞片分化小鳞茎数也是下部最多,达 4.6 个。因此,在百合鳞片离体培养宜采用鳞片中、下部为外植体。

表 4 鳞片不同部位对小鳞茎再生的影响

品种	接种鳞	分化小鳞茎的	分化率	平均每块鳞片
	片数/ 块	鳞片数/ 块	/ %	分化小鳞茎数/ 个
上部	20	1	5.0	2.1
中部	34	15	44.1	3.2
下部	50	45	90.0	4.6

2.4 鳞片接种方位对再生小鳞茎的影响

将 3 个品种的鳞片分近轴面向上和远轴面向上两种方式接入培养基中,40 d 后观察小鳞茎再生情况。3 个百合品种近轴面向上接种鳞片再生小鳞茎的频率略高于远轴面向上,最高可达 100%,且近轴面向上的小鳞茎增殖也较远轴面向上多(表 5)。从增殖小鳞茎的生长

情况来看,近轴面向上的生长势良好,整齐一致,利于成活。而远轴面向上长势较弱,整齐度不好。由此可见,百合鳞片离体培养时近轴面向上较适宜。

表 5 百合鳞片接种方位对再生小鳞茎的影响

品种	接种方位	接种鳞	分化小鳞茎	再生率	平均每块鳞片分化
		片数/ 块	的鳞片数	/ %	小鳞茎数/ 个
布鲁拉诺	近轴面向上	40	40	100.0	5.5
	远轴面向上	40	38	95.0	4.5
提伯	近轴面向上	30	29	96.7	4.2
	远轴面向上	30	28	93.3	3.5
索蚌	近轴面向上	36	36	100.0	4.8
	远轴面向上	36	34	94.4	3.9

3 讨论

在百合的组织培养中,多采用鳞片作为外植体。试验发现,在相同条件下,不同品种分化小鳞茎的能力有较大差异,其原因可能为:一是不同品种的内源激素水平不同,因此在离体培养中所需要的外源生长调节剂也不一样,这与杨增海等(1987)报道一致^[7]。二是材料对消毒处理有不同的反应,例如,‘提伯’的鳞片,在相同的消毒条件下,分瓣污染率最高,而诱导率也较其他 2 个品种低。

目前,我国百合种球的繁殖方法主要是分株小鳞茎和鳞片扦插等方法,前者种球数量少,后者容易腐烂,尤其是经过多代繁殖后,常导致种球感染病毒,造成种性退化。组织培养则有效的解决了这个问题,对百合种球脱毒、复壮起到重要作用。因此,以该试验为基础,建立东方百合和亚洲百合的离体再生体系对减少我国对进口百合种球的依赖,进行百合种球国产化生产有较大意义。

参考文献

[1] 何林, 张洁, 郭启高, 等. 东方百合 Tiber 多倍体诱导及其快繁研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(6): 945-949.

[2] 乔永旭 陈超, 张永平, 等. 东方百合“索邦”离体培养再生体系的建立[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(1): 67-69.

[3] 孙晓梅 付强. 王百合的组织培养研究[J]. 辽宁林业科技, 2001(5): 8-9, 25.

[4] 付玉兰 何凤群. 影响百合试管鳞茎增殖因素的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(2): 179-181.

[5] 杭玲, 苏宾 陈雨新, 等. 龙牙百合组培快繁技术研究[J]. 广西农业科学, 2001(4): 183-184.

[6] 姚连芳 张建伟. 野生百合组织培养试验研究[J]. 河南职业技术学院学报, 2002(1): 23-26.

[7] 杨增海 王聚瀛. 植物生长调节剂对百合组织培养繁殖的效应[J]. 西北农业大学学报, 1987, 15(3): 72-77.

[8] 郭海滨 雷家军. 卷丹百合鳞片及珠芽组织培养研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(2): 72-74.

茉莉花 ISSR-PCR 反应体系的建立

邱长玉^{1,2}, 高国庆¹, 陈伯伦¹, 周瑞阳², 牛 英², 张加强²

(1. 广西农业科学院, 广西 南宁 530007; 2. 广西大学, 广西 南宁 530004)

摘 要:以茉莉花为材料, 研究了 PCR 反应体系的主要成分及退火温度对茉莉花 ISSR 扩增结果的影响。结果表明: 在 20 μ L 的反应体中, Mg^{2+} 的用量为 1.2~1.6 mmol/L, dNTPs 浓度为 0.15 mmol/L, 引物的浓度为 0.5 μ mol/L, Taq DNA 聚合酶的用量为 1U, 模板 DNA 的用量为 40~70 ng, 在 48~50 $^{\circ}$ C 的退火温度下 40 个循环, 能得到清晰、多态性高的 ISSR 带谱。

关键词:茉莉花; ISSR; 反应体系; 优化

中图分类号: S 603.6; S 685.16 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0214-04

茉莉(*Jasminum sambac* (Linn.) Aiton.)也称茉莉花, 木樨科多年生灌木, 素馨属(或茉莉属), 属亚热带植物, 原产波斯湾一带。我国是世界上茉莉花产量最多的国家^[1]。其鲜花香气清幽, 花性味辛、甘、凉, 具有理气、开郁、辟秽、和中的作用, 广泛用于茶、烹调、保健食品中, 食之有清热明目, 治高血压的作用。广西横县是全国最大的茉莉花生产和花茶加工基地, 至 2002 年全县种植茉莉超过 4 000 hm^2 , 年产鲜花 5 万 t 以上, 茉莉花产量占全国总产量的 50% 以上, 茉莉花和花茶年销售产值达 10 亿元以上, 全县农民来自茉莉花的收入达 2.5 亿元^[2]。茉莉种植业和加工业已成为该县的经济支柱之一。茉莉

花茶是广西出口的大宗产品之一。近年来随着花茶业的发展, 茉莉种植面积有进一步上升的趋势。充分了解他们的性状特点, 掌握其遗传关系是育种工作的关键。

ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat, 简单序列重复区间扩增)又叫随机扩增微卫星多态性标记(Random Amplified Microsatellites Polymorphisms, 简称 RAMP), 是 Zietkiewicz 等于 1994 年在 SSR (Simple Sequence Repeat)基础上创建、基于 PCR 扩增的一种新型分子标记技术。其原理是根据基因组内广泛存在的微卫星基序设计单一引物。在 5' 或 3' 锚定几个随机碱基, 对基因组 DNA 进行扩增, 扩增的指纹图可以同时提供基因组内多个位点的序列信息。所用的引物是基于简单序列重复而设计的寡核苷酸引物, 用来检测 2 个 SSR 之间的一段短 DNA 序列的差异^[3]。它操作简单, 遗传多态性高, 重复性好, 而且为显性标记。并结合了 RAPD 标记简单、快速和 RFLP 和 SSR 标记可靠的优点, 因而近年来得到了广泛的应用^[4], 作为一种随机扩增的 PCR 技

第一作者简介: 邱长玉(1976-), 女, 湖北钟祥人, 在读硕士, 从事作物遗传育种方向研究。E-mail: q6c6y6@163.com.

通讯作者: 高国庆。E-mail: gqgao@gxaas.net.

基金项目: 青年基金资助(桂科青 0640020)。

收稿日期: 2007-10-08

Study on Bulb Scale Culture in Vitro of Lily

LI Min, WANG Jun

(Dalian Flowers Nursery Stock Co. Ltd, Dalian, Liaoning 116033, China)

Abstract: The bulb scales of three lily cultivars 'Brunello', 'Tiber' and 'Sorbonne' were used as explants in the experiment. The effect of different methods of sterilization, different cultivars, different parts and orientation of scales inoculated on culturing in vitro of bulb scales in lily were compared. The results showed that the best method of sterilization was 0.1% $HgCl_2$ with 8 minutes. The rate of contamination was lower and the rate of survival was up to 90.9%. The rate of contamination could be reduced using the sterilization method for the whole bulb. The differentiation capability of bulblets among lily cultivars was different obviously. The capability from strong to weak was 'Brunello', 'Sorbonne' and 'Tiber'. The capability of different parts of bulb scale to differentiate bulblets from strong to weak was underside, middle and upside. The bulblet regeneration was more when the bulb scales were inoculated upwards with the rate up to 100%.

Key words: Lily; Bulb Scales; Culture in vitro